

家兎網膜虚血に対する dextromethorphan の予防効果

菅原 岳史, 森 敏郎, 亀井 俊也, 田澤 豊

岩手医科大学眼科学教室

要 約

グルタミン酸レセプターのうち, N-methyl-D-aspartate (NMDA) レセプターの拮抗剤である dextromethorphan (DEX) が, 脳を虚血から保護するとの報告がある. 網膜での同様の効果を期待して, 0.4% の DEX 生理食塩水溶液を家兎に静注後に, 眼圧上昇による眼内虚血を負荷し, 虚血解除後の ERG・b 波の回復を, 生理食塩水を静注した対照群と比較した. 回復が最大に達した虚血解除3時間後の DEX 群および対照群の b 波の回復は, 90 分虚血では, それぞれ 72.5 ± 9.0 および $38.5 \pm 8.5\%$, 120 分虚血では, 44.0 ± 7.9 および $21.0 \pm 1.3\%$ と, DEX 群が良好であった. 他の記録時点でも, DEX 群の回復は対照群よりも有意 ($p < 0.01$) に良好で, 網膜虚血に対する DEX の予防的な全身投与の有効性が示された. また, DEX の投与濃度として, 0.1~0.4% が有効であった. (日眼会誌 96: 90-95, 1992)

キーワード: デキストロメトルファン, グルタミン酸レセプター拮抗剤, 網膜虚血, ERG, 家兎

Protective Effect of Dextromethorphan on the Ischemic Retinal Damage in Rabbit

Takeshi Sugawara, Toshiro Mori, Shunya Kamei and Yutaka Tazawa

Department of Ophthalmology, Iwate Medical University

Abstract

To investigate the effect of dextromethorphan (DEX), N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist, on the retinal ischemia, 0.4% DEX hydrobromide was intravenously given to rabbits before, during and after retinal ischemia. Retinal function was monitored by electroretinogram (ERG). Retinal ischemia was induced by increasing intraocular pressure to 130 mmHg for 90 or 120 min. Amplitudes of ERG・b-waves recorded after the 90 min ischemia recovered to $72.5 \pm 9.0\%$ in the DEX group and $38.5 \pm 8.5\%$ in the control group which was given normal saline. The maximal recovery rates of b-wave amplitudes after the 120 min ischemia were $44.0 \pm 7.9\%$ in the DEX group and $21.0 \pm 1.3\%$ in the control group. The recovery rates of the b-wave amplitudes in DEX group were significantly higher than in the control group ($p < 0.01$). It was found that the effective dose of DEX was 0.1~0.4%. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96: 90-95, 1992)

Key words: Dextromethorphan, Glutamate receptor antagonist, Retinal ischemia, ERG, Rabbit

別刷請求先: 020 盛岡市内丸19-1 岩手医科大学眼科学教室 菅原 岳史

(平成3年3月22日受付, 平成3年5月9日改訂受理)

Reprint requests to: Takeshi Sugawara, M.D. Department of Ophthalmology, Iwate Medical University, 19-1 Uchimarui, Morioka 020, Japan

(Received March 22, 1991 and accepted in revised form May 9, 1991)

I 緒言

最近、脳神経学領域で、グルタミン酸レセプターの一種である N-methyl-D-aspartate (NMDA) レセプターの拮抗剤のひとつとされる dextromethorphan (DEX) に、脳神経細胞を虚血から保護する効果があることが、家兎やラットを用いた実験で報告されている^{1)~4)}。DEX は、組織学的に脳に類似する網膜の虚血に対しても同様の効果が期待されることから、家兎の眼圧上昇(60分あるいは75分間)⁵⁾、あるいは、ラットの内頸動脈結紮(30分間)⁶⁾による眼内虚血に対して、虚血前から DEX を全身投与した群の網膜電図(ERG)・b波の回復が、対照群よりも良好であったとする報告も既になされている。

そこで今回は、眼内の虚血時間(眼圧上昇)を90分あるいは120分と長くした場合の、ERG 波形に対する DEX の予防的な全身投与の効果を調べるとともに、さらに、その有効濃度についても検討したので報告する。

II 実験方法

有色家兎(体重1.7~2.0 kg) 13羽25眼を用いた。片眼の瞳孔を、0.5%フェニレフリン、塩酸トロピカミドおよび1%アトロピンで極大散瞳した後に、塩酸ケタミンの筋肉内注射(30 mg/kg)とウレタンの腹腔内注射(1.4 g/kg)で麻酔した。次に、虚血前 ERG を記録した後、まず、0.4% DEX の生理食塩水溶液を、虚血作成の30分前から、10 ml/kg/hr の速度で耳介静脈へ30分間点滴投与した。次いで後述する方法で、90分あるいは120分間の眼内虚血を負荷し、虚血中および虚血解除後4時間まで DEX を2.5 ml/kg/hr の速度で点滴投与した。対照群には同じ方法で生理食塩水を静注した。また、有効濃度を検討するため、0.4%、0.01、0.1および1.0%の各濃度の DEX を同様の方法(虚血時間は90分のみ)で投与した。

眼内虚血の作成には眼圧上昇法を用いた(図1)。すなわち、24 G の血管留置針(サーフロ®)の先端約3 mm を角膜輪部より前房内に刺入し、血管留置針のカテーテル部のみ角膜に瞬間接着剤で固定した。このカテーテルと三方活栓の両枝端の一端をチューブで連結した。両枝端の他端には U 字型水銀圧力計をつないだ。ヘパリン加生理食塩水を満たした注射筒を三方活栓の中央端につなぎ、注射筒を押して130 mmHg の眼圧上昇による眼内虚血を作成した。なお、虚血の作成直後、解除直前および解除直後に眼底を倒像鏡で観察

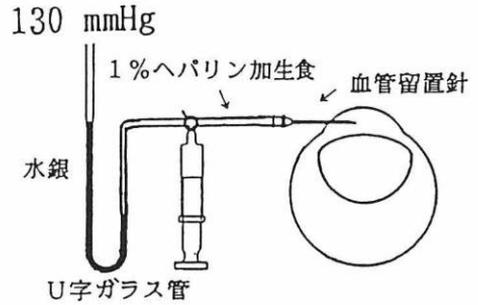


図1 眼圧上昇法。

し、眼内循環が途絶あるいは再開していることを確認した。

ERG の記録には、脳波導出用の銀-塩化銀電極(UNIQUE MEDICAL 社, UCH)を用い、関電極を角膜上に、不関電極を結膜切除して露出した強膜上の角膜輪部より後方3 mm の部位に設置した。光刺激は、250 W ハロゲンランプ光を直径6 mm、長さ90 cm のファイバーオプティクスで家兎の眼前3 cm まで誘導し、角膜面上の照度を4,000 lux に調光した。刺激持続時間は4秒とした。得られた電位は直流増幅器(日本光電社, AD-610 G)で増幅後、サーマルアレイレコーダー(日本光電社, RTA-1100)で記録した。はじめに、40分の前暗順応後、虚血負荷前として ERG を2回記録した。その後、明室状態にて DEX の静注および虚血負荷作成の操作をした。つづいて暗順応状態にし、90または120分の虚血負荷を行った。虚血解除直前にも ERG を2回記録した。その後、眼圧を正常にもどした。虚血解除後に再び暗順応を開始し、30分間隔で4時間後まで各2回ずつ ERG を記録した。ここで家兎を一旦飼育室に戻し、さらに虚血解除24時間後と1週間後にも、40分間の前暗順応後に各2回ずつ ERG を記録した。

実験は、90分あるいは120分間の眼内虚血に対する0.4% DEX 群および対照群として、それぞれ4眼ずつ、また、0.01、0.1および1.0% DEX 群として、それぞれ3眼ずつ、合計25眼について行った。

III 結果

1. 90分虚血に対する0.4% DEX の効果

DEX 群および対照群の虚血前、虚血90分後、虚血解除後の ERG の代表例の波形を図2に、また、両群それぞれ4眼の a および b 波の平均振幅の時間経過を図3および4に示した。

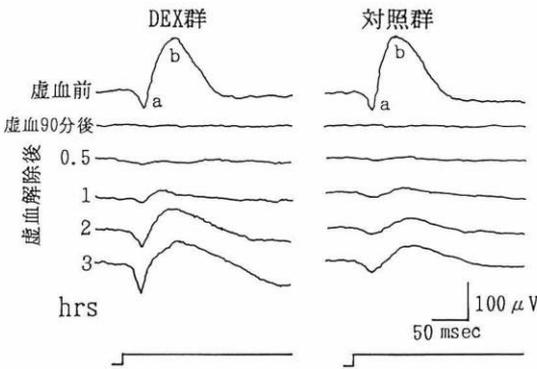


図2 DEX群および対照群の90分虚血後のERG回復過程の代表例。

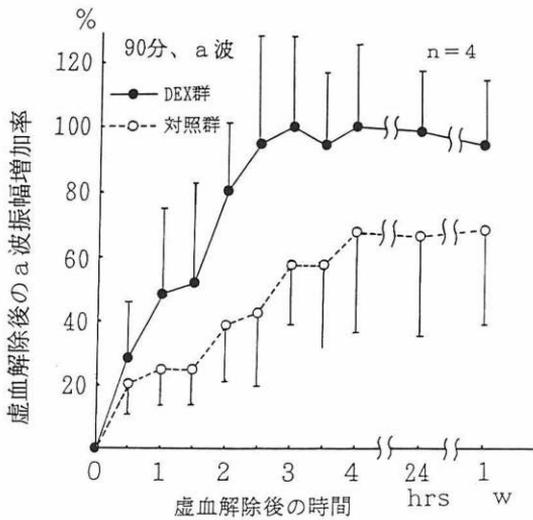


図3 DEX群および対照群の90分虚血後のa波平均振幅の回復経過。

aおよびb波は、両群ともに、虚血90分後では振幅が消失していたが、解除後30分で、a、b波ともにわずかに出現し始め、3時間後までは時間の経過とともにその振幅は増大した。aおよびb波の回復の程度は、DEX群が対照群よりも良好であった。

a波の平均振幅の虚血前の値を100%としたときの、DEX群および対照群の虚血解除後30分の値は、それぞれ 27.9 ± 15.1 および $21.5 \pm 7.0\%$ であり、その後いずれも次第に増大し、3時間後にはそれぞれ 98.8 ± 29.0 および $57.4 \pm 25.6\%$ となった。その後の振幅はほぼ一定で、24時間後および1週間後でも同様であった。DEX群と対照群との間では、虚血解除後2から3.5時間まではDEX群の回復が有意 ($p < 0.05$) に

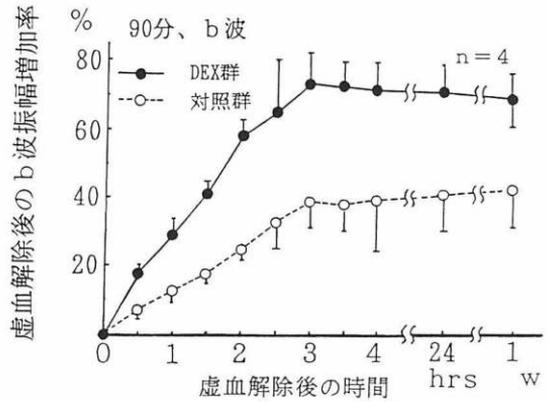


図4 DEX群および対照群の90分虚血後のb波平均振幅の回復経過。

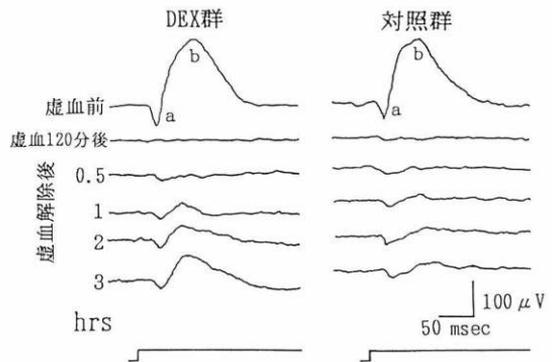


図5 DEX群および対照群の120分虚血後のERG回復過程の代表例。

良好であったが、他の時点では両群間に有意差はなかった。なお、DEX群では、虚血解除後の振幅が虚血前より大きくなる例もみられた。

b波の平均振幅の虚血前の値を100%としたときの、DEX群および対照群の虚血解除後30分の値は、それぞれ 17.4 ± 3.0 および $7.3 \pm 2.3\%$ であり、3時間後では、それぞれ 72.5 ± 9.0 および $38.5 \pm 8.5\%$ となり、その後はほぼ一定であった。b波振幅の回復は、どの記録時点においても、DEX群が対照群よりも有意 ($p < 0.01$) に良好であった。また、両群ともに、a波の回復はb波よりも良好な傾向はあるものの、有意差はなかった。

2. 120分虚血に対する0.4% DEXの効果

DEX群および対照群の虚血前、虚血120分後、虚血解除後のERG代表例の波形を図5に、また、両群それぞれ4眼のaおよびb波の平均振幅の時間経過を図

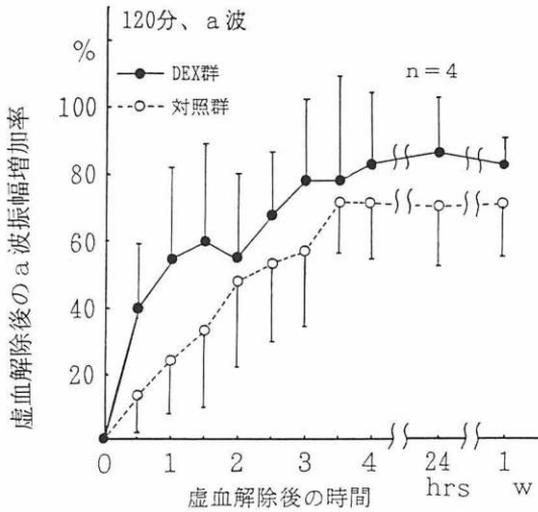


図6 DEX群および対照群の120分虚血後のa波平均振幅の回復経過。

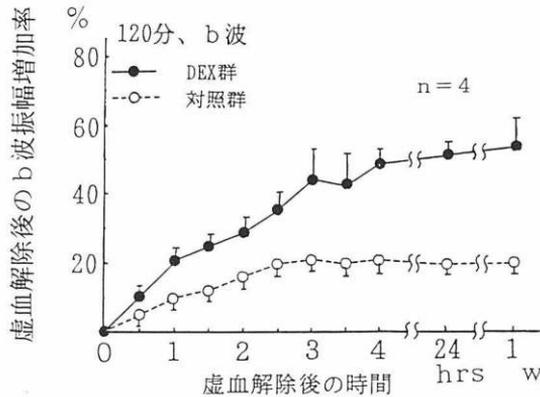


図7 DEX群および対照群の120分虚血後のb波平均振幅の回復経過。

6および7に示した。

aおよびb波は、両群ともに、虚血120分後では振幅が消失していたが、解除後30分でa、b波ともにわずかに出現し始め、3時間後までは時間の経過とともにその振幅は増大した。回復の程度は、b波ではDEX群が対照群よりも良好であったが、a波に差はみられなかった。また、90分虚血に比較すると、a、b波の回復はともに減弱していた。

a波の平均振幅の虚血前の値を100%としたときの、DEX群および対照群の虚血解除後30分の値は、それぞれ40.3±17.1および14.2±9.9%で、3時間後は、それぞれ77.8±23.6および57.5±17.1%であり、

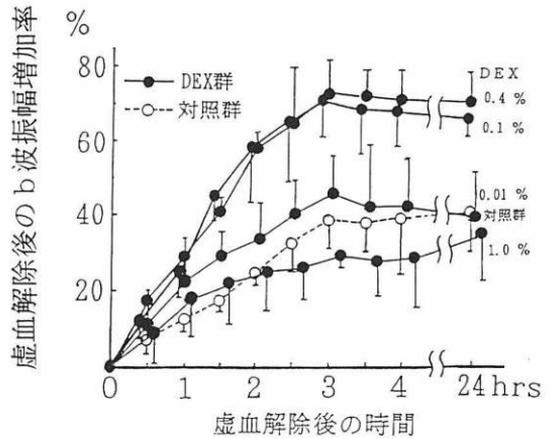


図8 濃度別DEX群および対照群の90分虚血後のb波平均振幅の回復経過。

その後は24時間後および1週間後にも変化はみられなかった。DEX群と対照群の間では、虚血解除30分の時点でのみDEX群の回復は有意(p<0.05)に良好であったが、その後はどの時点でも有意差は認められなかった。

b波の平均振幅の虚血前の値を100%としたときの、DEX群および対照群の虚血解除後30分の値は、それぞれ8.9±1.1および5.1±2.5%で、3時間後では、それぞれ44.0±7.9および21.0±1.3%であり、その後はほぼ一定であった。虚血時間120分のb波振幅の回復は、どの記録時点においてもDEX群は対照群より有意(p<0.01)に良好であった。また、両群とも、a波と比較してb波の回復は弱く、虚血解除後3時間以降では有意(p<0.05)に低下していた。

なお、90分虚血の場合と比較すると、b波回復はそれぞれ有意(DEX群:p<0.01, 対照群:p<0.05)に減弱していたが、a波の回復は、両群とも、90分虚血との間では有意差はなかった。

3. 有効濃度の検討

0.01, 0.1および1.0%の各濃度のDEXを投与した場合のb波振幅の回復経過(90分虚血)を、前述の0.4% DEXおよび対照群の回復経過とあわせて図8に示した。

0.01% DEXでは、虚血によって消失していたb波が解除後30分から記録され、時間の経過とともに振幅が次第に増大し、解除後3時間目にほぼ最大となり、その後は一定であった。また、回復の程度は前述の対照群と同様であった。虚血前の振幅を100%としたと

きの解除3時間後におけるb波振幅の回復は、0.01% DEXでは $46.2 \pm 10.4\%$ であり、対照群の $38.5 \pm 8.5\%$ とほぼ同様で、どの記録時点においても有意差を認めなかった。しかし、前述の0.4% DEXによる3時間後の回復率 $72.5 \pm 9.0\%$ に比較すると、回復の程度は有意($p < 0.05$)に低下していた。

0.1% DEXでは、b波は解除後30分から記録され、時間の経過とともに次第に増大し、解除後3時間目にはほぼ最大になった後は変化なかった。虚血前の振幅を100%としたときの、虚血解除後3時間のb波振幅の回復は、 $70.2 \pm 9.4\%$ であり、対照群の $38.5 \pm 8.5\%$ と比較して有意($p < 0.01$)に良好で、0.4% DEX群とほぼ同程度の効果を示した。

1.0% DEXでも、b波は解除後30分から記録され、時間の経過とともに増大し、解除後3時間目にはほぼ最大になり、その後は一定であった。しかし、回復の程度は、対照群と同様か、あるいはやや不良であった。虚血前の振幅を100%としたとき、解除後2.5時間以降は、対照群よりも不良となる傾向があった。解除後3時間のb波振幅の回復は、 $29.7 \pm 1.4\%$ であり、対照群の $38.5 \pm 8.5\%$ よりも小さかったが、有意差はなかった。また、0.1および0.4% DEX群に比較すると、回復率は有意($p < 0.01$)に低下していた。

IV 考 按

DEXの網膜虚血に対する有効性を検討した報告は、著者らの調べた範囲では下記の2報のみである。すなわち、Yoonら⁵⁾は、1.7~2.0 kgの家兎に0.4% DEX生理食塩水溶液40 mgを30分間で静注後に60分あるいは75分間の眼内虚血(眼圧上昇法)を負荷し、つづいて虚血解除後4時間まで20 mg/hrの点滴速度でDEXを投与しながらERGを記録した結果、b波振幅の回復が対照群に比較してDEX群で良好であり、同時に検討した形態学的変化で顆粒層の浮腫を伴う細胞密度の減少などの網膜の虚血性変化がDEX群では少なかったと報告した。また、Crossonら⁶⁾は、ラットの眼内虚血(内頸動脈結紮法)に対してDEXを予防的に腹腔内に20 mg/kg投与した場合に、b波の回復が対照群に比較して良好であったとしている。今回は、Yoonら⁵⁾の報告と同様に家兎を用いたが、虚血負荷時間を延長して90分あるいは120分間にした結果、長時間の虚血であっても、DEXを予防的に全身投与することにより網膜を虚血から保護する可能性が示された。しかし、虚血時間を120分より長くすると、眼球

壁に亀裂が生じることが予測されたため、それ以上の時間では検討しなかった。

また、DEXの有効濃度と投与量の検討で、家兎の脳神経組織の虚血に対しては、濃度0.4%、総量70 mg/kgで有効³⁾と報告されており、我々の有効濃度0.1~0.4%、総量19~80 mg/kgとほぼ一致していた。しかし、今回の実験で濃度を1.0%に濃くした場合には、0.4% DEX群より回復が不良であり、これはDEXの副作用としての呼吸や血圧など全身への影響³⁾がERGの回復不良の原因になったためと考えられた。

a波振幅においては、対照群と比較して、DEX群の回復が良好な傾向はあったものの、虚血解除後の全記録時点で有意差のみられたb波とは異なり、90分虚血群の解除後2から3.5時間以外および120分虚血群の解除後1時間以降では有意差が認められなかった。これまでの報告でも、a波の回復はDEX群で良好な傾向はあるものの、対照群との間に有意差は認められていない⁵⁾⁶⁾。これは、a波の虚血に対する抵抗がb波に比べて強く、対照群でも虚血後の振幅の回復が比較的良好なこと、および、視細胞から2次ニューロンへ放出されるグルタミン酸は、a波など視細胞由来の電位発現には影響しないことによると推察した。

網膜虚血の指標とされるb波振幅の回復をみると、虚血時間が長い程回復は悪くなるものの、対照群に比較してDEX群では良好であり、全記録時点で有意差がみられたことは、同剤の臨床応用の可能性を示唆する所見である。

視細胞からの神経伝達物質は、一般にグルタミン酸とされており、暗時に視細胞から持続的に放出され、光刺激によって放出が抑えられる。しかし、過剰に放出されると神経毒として作用することも知られている。他方、グルタミン酸に対するレセプターは、網膜では主に双極細胞や水平細胞に存在し、NMDA、カイン酸およびキスカル酸の3種類のレセプターが判明している。(APBレセプターを含めて4つに分類する場合もある)。このうち、NMDAレセプターにはカルシウムとナトリウムの、また、カイン酸およびキスカル酸のレセプターにはナトリウムのチャンネルがあることが確認されている。

網膜虚血が起こると、視細胞のATP回路が作動せず、ナトリウム-カリウムポンプの機能低下が起こり、細胞外カリウム濃度が増大して視細胞に脱分極が生じ、大量のグルタミン酸が放出される。余分なグルタミン酸が水平細胞や双極細胞など2次ニューロンのグ

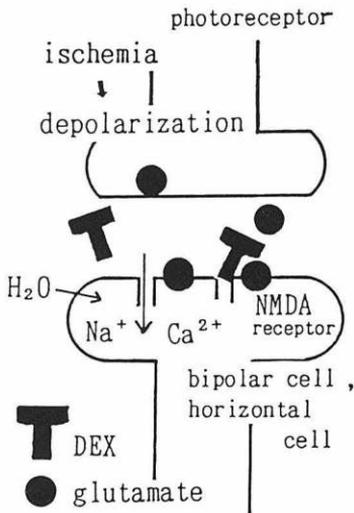


図9 虚血性神経細胞壊死におけるグルタミン酸の関与とDEXの作用機序。

グルタミン酸レセプターに結合すると、ナトリウムチャンネルが通常よりも開大し、細胞内に過剰なナトリウムが取り込まれ、同時に水も引き寄せられることで細胞が膨化し、破壊される⁷⁾⁸⁾と考えられている。さらに、細胞内に過剰なカルシウムも取り込まれ、カルシウム依存性の多くの酵素が活性化される結果、細胞の分解壊死が進む可能性も考えられている^{9)~11)}。今回の結果は、DEXはNMDAレセプターのイオンチャンネル部で非競合的に拮抗し、開大したチャンネル部を閉鎖する¹²⁾ので、虚血時に増加したグルタミン酸による細胞内への過剰なナトリウムとカルシウムの流入を防いだ(図9)結果、形態的あるいは機能的細胞障害を軽減し、ERGの回復が良好になったと考えることが可能である。ただし、虚血時にNMDAレセプターの拮抗剤であるDEXを投与しても、他のグルタミン酸レセプター(カイニン酸とキスカル酸)の作用は維持されているので、なお過剰なナトリウムが細胞内に流入していることが考えられる。それにも拘らず、ERGの回復が良好であったことから、虚血による網膜神経細胞障害には、ナトリウムの流入よりも、NMDAレセプターに特異的なカルシウムの流入が主に関与していると考えられる。

DEXはカルシウムをブロックするので、血管拡張剤として働くことも考えられ、事実、DEXによる脳血流量増加の報告⁴⁾もある。今回のb波の回復、a波の90分

虚血における解除後2から3.5時間の回復、あるいは虚血解除後の振幅が虚血前よりも増大した例があったことなどは、DEXの血流増加作用によるものとも考えられる。

臨床的なDEXの予防的投与としては、硝子体手術時の超高灌注圧下での増殖膜処理の施行前などが考えられるが、脳神経組織では虚血後に投与した場合でも有効であったとする報告²⁾⁴⁾もある。DEXは鎮咳剤として既に頻用されていることから、至適濃度を維持すれば安全性も高く、今後、虚血後に投与する方法や投与量を検討することによって、網膜の虚血性病態の治療に有効な薬剤となる可能性があると思われる。

文 献

- 1) George CP, Goldberg MP, Choi DW, et al: Dextromethorphan reduces neocortical ischemic neuronal damage in vivo. *Brain Res* 440: 375-379, 1988.
- 2) Steinberg GK, Saleh J, Kunis D: Delayed treatment with dextromethorphan and dextrorphan reduces cerebral damage after transient focal ischemia. *Neurosci Lett* 89: 193-197, 1988.
- 3) Steinberg GK, George CP, DeLaPaz R, et al: Dextromethorphan protects against cerebral injury following transient focal ischemia in rabbits. *Stroke* 19: 1112-1118, 1988.
- 4) Tortella FC, Martin DA, Allot CP, et al: Dextromethorphan attenuates post-ischemic hypoperfusion following incomplete global ischemia in the anesthetized rat. *Brain Res* 482: 179-183, 1989.
- 5) Yoon YH, Marmor MF: Dextromethorphan protects retina against ischemic injury in vivo. *Arch Ophthalmol* 107: 409-411, 1989.
- 6) Crosson CE, Willis JA, Potter DE: Does dextromethorphan prevent ischemic retinal dysfunction by NMDA receptor antagonism? *ARVO (abstract)*: 385, 1990.
- 7) Rothman SM, Olney JW: Glutamate and the pathophysiology of hypoxic-ischemic brain damage. *Ann Neurol* 19: 105-111, 1986.
- 8) Meldrum BR: Possible therapeutic applications of antagonists of excitatory amino acid neurotransmitters. *Clin Sci* 68: 113-122, 1985.
- 9) Siesjö BK: Mechanisms of ischemic brain damage. *Crit Care Med* 16: 954-963, 1988.
- 10) 稲村憲治, 赫 彰郎: 虚血性神経細胞壊死、一興奮性アミノ酸とカルシウム。脳卒中 11: 455-468, 1989.
- 11) 植松大輔, 福内靖男: 脳循環とCa拮抗剤, 脳神経 42: 17-31, 1990.
- 12) 小川紀雄: 興奮性アミノ酸レセプター: 新脳のレセプター。大阪, 大阪世界保険通信社, 281-327, 1989.